



## FUNCTIONAL SELECTIVITY – CHANCE FOR BETTER AND SAFER DRUGS? SELEKTYWNOŚĆ FUNKCJONALNA – SZANSA NA SKUTECZNIEJSZE I BEZPIECZNIEJSZE LEKI?

Correspondence to/  
Adres do korespondencji:

Marcin Kołaczkowski  
Zakład Chemii Leków,  
Katedra Chemii Farmaceutycznej  
Wydział Farmaceutyczny,  
Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński  
Medyczna 9  
30-688 Kraków, Polska  
phone: +48 12 620 54 60  
fax: +48 12 620 54 58  
e-mail: marcin.kolaczkowski@uj.edu.pl

Submitted/Otrzymano: 30.05.2017  
Accepted/Przyjęto do druku: 21.09.2017

Joanna Śniecikowska<sup>1</sup>, Monika Głuch-Lutwin<sup>1</sup>,  
Adam Bucki<sup>1</sup>, Paweł Mierzejewski<sup>2</sup>, Marcin Kołaczkowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University Medical College, Kraków, Poland

<sup>2</sup>Department of Pharmacology and Physiology of the Nervous System,  
Institute of Psychiatry and Neurology, Warszawa, Poland

<sup>1</sup>Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków,  
Poland

<sup>2</sup>Zakład Farmakologii i Fiziologii Układu Nerwowego, Instytut Psychiatrii i Neurologii,  
Warszawa, Poland

### Abstract

**Purpose:** The article reviews the current state of knowledge about functional selectivity (biased agonism) at G protein-coupled receptors (GPCRs), with a particular focus on serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors.

**Views:** Recently, functional selectivity has been one of the fastest growing topics in GPCRs pharmacology. Research on this phenomenon allowed identification of signal transduction pathways which can be preferentially targeted to achieve improved therapeutic effects or, conversely, which are associated with adverse effects. Oliceridine, a phase III clinical candidate for treatment of pain, is an example of a functionally selective ligand of  $\mu$ -opioid receptors that preferentially activates signal transduction via G proteins rather than  $\beta$ -arrestin. Biased agonism, or the ability to preferentially activate specific signalling pathways, has been identified for many therapeutically important GPCRs, such as  $\mu$ -opioid receptors,  $\alpha_1$ - and  $\beta_2$ -adrenoceptors, dopamine D<sub>2L</sub> and D<sub>1</sub> receptors, angiotensin 1A receptor, as well as 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>1A</sub> serotonin receptors. The recently discovered compounds F15599 and F13714 have been identified as functionally and regionally selective ligands of 5-HT<sub>1A</sub> receptors. These compounds constitute a new generation of pharmacological tools with high therapeutic potential, which is currently being investigated for the treatment of disorders including Parkinson's disease, depression and Rett syndrome.

**Conclusions:** Functional selectivity (biased agonism) enables separation of the therapeutic effect from the adverse effects, so far considered to be intrinsically linked to the mechanism of action, by preferentially targeting signal transduction pathways associated with beneficial effects. It may therefore offer new opportunities for improved development of more effective and safer drugs.

**Key words:** functional selectivity, biased agonism, 5-HT<sub>1A</sub> receptor, F15599, F13714.

### Streszczenie

**Cel:** W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat zjawiska selektywności funkcjonalnej (stronniczego agonizmu) w farmakologii receptorów sprzężonych z białkiem G (*G protein-coupled receptors* – GPCRs), ze szczególnym uwzględnieniem receptorów serotoninowych typu 1A.

**Poglądy:** W ostatnich latach selektywność funkcjonalna stała się jednym z najszybciej rozwijających się tematów w farmakologii GPCRs. Badania nad tym zjawiskiem umożliwiają identyfikację szlaków transdukcji sygnału, które są preferowane dla efektu terapeutycznego lub związane z efektami niepożądanymi danego receptora. Przykładem może być oliceridyna, agonista receptorów opioidowych, selektywny funkcjonalnie wobec ścieżki przekazywania sygnału przez białko G względem  $\beta$ -arestyny, tj. nowy kandydat na lek przeciwbólowy. Selektywność funkcjonalna, nazywana inaczej stronniczym agonizmem, czyli zdolność do preferencyjnej aktywacji wybranej ścieżki sygnałowej, została zidentyfikowana w obrębie całej gamy ważnych terapeutycznie celów z rodziny GPCRs, m.in. receptorów  $\mu$ -opiodowych,  $\alpha_1$ - i  $\beta_2$ -adrenergicznych, dopaminowych D<sub>2L</sub> i D<sub>1</sub>, angiotensynowych 1A, a także serotoninowych 5-HT<sub>2</sub> i 5HT<sub>1A</sub>. W ostatnich latach zidentyfikowano związki F15599 i F13714, ligandy receptora 5-HT<sub>1A</sub>, cechujące się zarówno selektywnością funkcjonalną, jak i regionalną (aktywacją wybranej subpopulacji receptorów w danym obszarze mózgu). Związki te stały się narzędziami farmakologicznymi nowej generacji. Posiadają przy tym wysoki potencjał terapeutyczny pozwalający na ich zastosowanie m.in. w chorobie Parkinsona, depresji czy zespole Retta.

**Wnioski:** Selektywność funkcjonalna (stronniczy agonizm) pozwala na oddzielenie efektu terapeutycznego od działań niepożądanych, uważanych dotąd za nierozdzielnie związane z mechanizmem działania, poprzez preferencyjną aktywację ścieżek transdukcji sygnału powiązanych z efektami pożądanymi. W związku z tym może oferować nowe możliwości w zakresie poszukiwania skuteczniejszych i bezpieczniejszych leków.

**Słowa kluczowe:** selektywność funkcjonalna, stronniczy agonizm, receptor 5-HT<sub>1A</sub>, F15599, F13714.

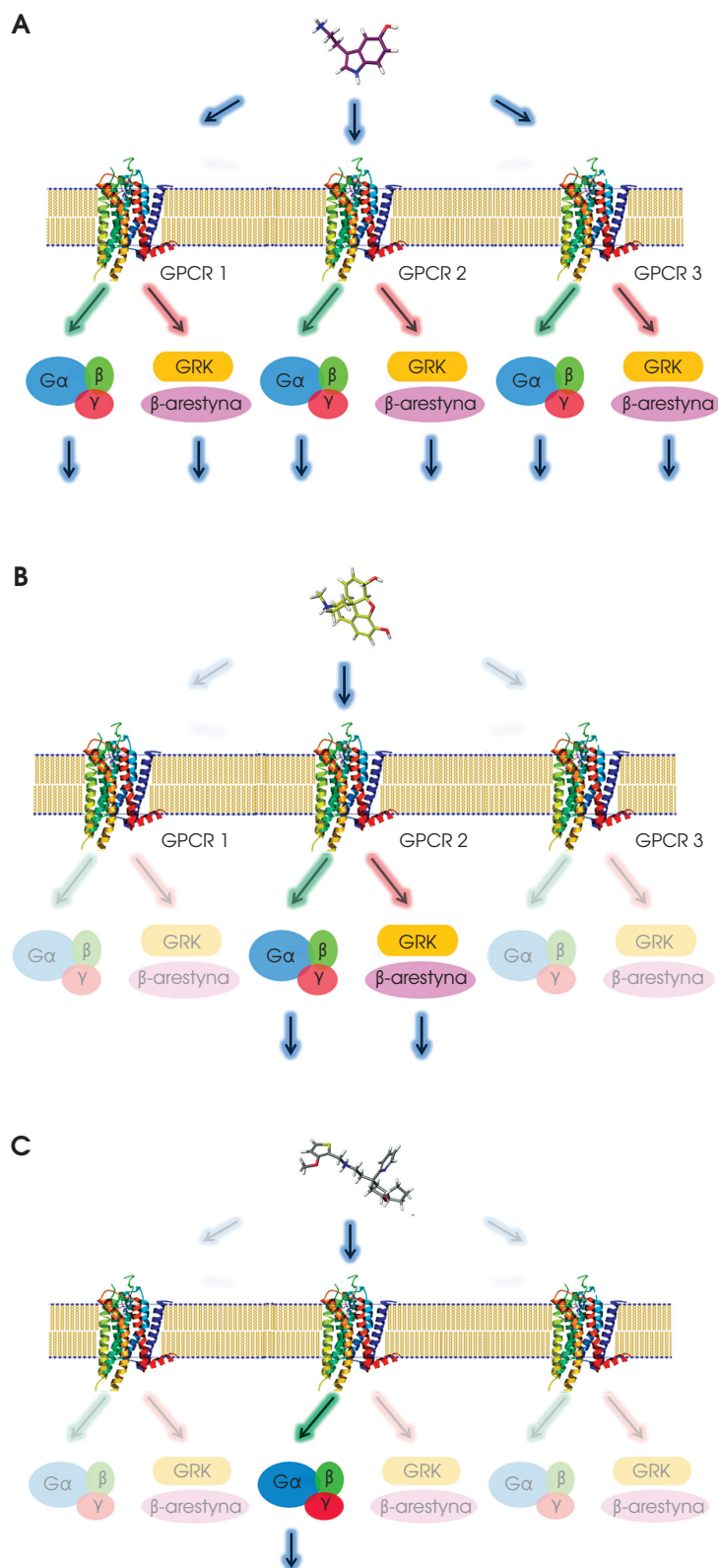
## PURPOSE

G protein-coupled receptors (GPCRs) are currently the largest class of biological targets for drugs [1]. In the past, they used to be considered as a kind of bimodal switches in which shift from inactive to active state was a consequence of conformational changes induced in the structure of the receptor upon agonist binding [2-5]. In such a two-state model, intrinsic activity of a ligand is dependent on the relative ability to stabilise an active rather than inactive receptor state, which then triggers intracellular signalling. That being said, certain intrinsic activity of a ligand should be observed regardless of the signalling measurement being performed [5, 6]. However, numerous studies conducted over the past two decades have shown that signalling cascades are not all linearly coupled, but constitute more complicated network of both G protein-dependent and G protein-independent pathways, that may be activated with different preference [7-9]. In this context, the finding that  $\beta$ -arrestin may not only act as a protein mediating the internalisation of receptors, but it can also recruit a range of signalling proteins, being an example of G protein-independent signalling, was a breakthrough [10].  $\beta$ -arrestin binds directly with a GPCR at a site which partially overlaps with the one where G protein is bound, which is preceded by receptor phosphorylation by G protein-coupled receptor kinases (GRKs) [11]. Research on the role of  $\beta$ -arrestin in signal transduction alternative to G proteins has, inter alia, became the basis for awarding the Nobel Prize in 2012 to Robert Lefkowitz, whose work was devoted to functional effects of GPCRs. GPCRs exist in conformational ensembles that beside inactive state include many active state conformations, preferentially coupling to various intracellular signalling proteins [12]. The results of numerous biophysical, biochemical and pharmacological studies showed that different ligands acting on the same receptor can stabilise their different conformations, which is subsequently related to the recruitment of different G proteins or  $\beta$ -arrestin and results in various intracellular responses [6]. The activation of different signal transduction pathways by a given receptor may in turn bring about different pharmacological effects. This phenomenon is known as functional selectivity

## WSTĘP

Receptory sprzężone z białkiem G (*G protein-coupled receptors* – GPCRs) są obecnie największą klasą celów biologicznych dla leków [1]. W przeszłości uważano je za swego rodzaju przełączniki bimodalne, w których przejście ze stanu nieaktywnego do aktywnego było konsekwencją zmian konformacyjnych w strukturze receptora wywołanych wiązaniem liganda [2-5]. W takim dwustanowym modelu aktywność wewnętrzna liganda jest zależna od jego względnej zdolności do stabilizacji stanu aktywnego wobec stanu nieaktywnego, co wywala sygnalizację wewnątrzkomórkową. W związku z powyższym określona aktywność wewnętrzna związku powinna być obserwowana niezależnie od rodzaju mierzonego sygnału [5, 6]. Liczne badania prowadzone w ciągu dwóch ostatnich dekad wskazały jednak, że kaskady sygnalizacyjne nie są sprzężone liniowo, ale stanowią bardziej złożoną sieć ścieżek, zarówno zależnych, jak i niezależnych od białka G, których aktywacja może przebiegać z różną preferencją [7-9]. Przełomowe w tym kontekście było odkrycie, że  $\beta$ -arestyna może działać nie tylko jako białko pośredniczące w procesie internalizacji receptorów, lecz może także rekrutować szereg białek sygnałowych, stanowiąc przykład sygnalizacji niezależnej od białka G [10].  $\beta$ -arestyna łączy się bezpośrednio z receptorem typu GPCR, w miejscu częściowo nakładającym się z tym, do którego przyłącza się białko G, co jest poprzedzone odpowiednią fosforylacją receptora przez kinazy sprzężone z białkiem G (GRKs) [11]. Badania nad rolą  $\beta$ -arestyny w transdukcji sygnału alternatywnej do białek G stały się m.in. podstawą przyznania w 2012 r. Nagrody Nobla dla Roberta Lefkowitza, którego prace poświęcone były efektom funkcjonalnym receptorów typu GPCR.

Receptory typu GPCR występują w zespołach konformacyjnych, które poza stanem nieaktywnym obejmują wiele konformacji stanu aktywnego, preferencyjnie sprzężonych z różnymi białkami sygnalizacji wewnątrzkomórkowej [12]. Wyniki licznych eksperymentów biofizycznych, biochemicznych i farmakologicznych wskazują, że różne ligandy działające na ten sam receptor mogą stabilizować jego odmienne konformacje, co jest związane z rekrutacją różnych białek G lub  $\beta$ -arestyn i prowadzi do różnych odpowiedzi wewnątrzkomórkowych [6]. Aktywacja różnych ścieżek transdukcji sygnału przez dany receptor może natomiast wywoływać odmienne efekty farmakologiczne.



**Figure 1.** Concept of functional selectivity. Comparison of non-selective agonist **(A)**, classic selective agonist **(B)** and functionally selective agonist (biased agonist) **(C)**

**Rycina 1.** Koncepcja selektywności funkcjonalnej. Porównanie agonisty nieselektywnego **(A)**, klasycznego agonisty selektywnego **(B)** oraz agonisty selektywnego funkcjonalnie (agonisty stronniczego) **(C)**

or biased agonism (Fig. 1) [13–15]. Therefore, conformational selection performed on a receptor by an appropriate ligand is the molecular basis of functional selectivity. It should also be emphasised that a given ligand not only may activate different signal transduction pathways in varying degrees, but at the same time can show agonistic properties against one of them and act as an antagonist against the other one [16].

In view of the above, functional selectivity enables separation of the therapeutic effect from the adverse effects, so far considered to be intrinsically linked to the mechanism of action. This offers completely new opportunities in searching for new drugs and thus functional selectivity has recently been one of the fastest growing topics in GPCRs pharmacology.

## EXAMPLES OF FUNCTIONAL SELECTIVITY

In the late 1990s, during the research on 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors, it was observed that different agonists of these receptors can preferentially activate the accumulation of inositol phosphate (IP), mediated by phospholipase C, or the release of arachidonic acid (AA) via A<sub>2</sub> phospholipase. It was found that hallucinogenic compounds, such as lysergic acid diethylamide (LSD), bufotenin and (±)-1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI) support the release of AA, while nonhallucinogenic ones, like quipazine and 3-trifluoromethylphenylpiperazine (TFMPP) preferentially activate accumulation of IP [6, 17]. The same applies to endogenous ligand of 5-HT<sub>2A</sub> receptor, i.e. serotonin, which can also be considered a “biased” agonist, selectively activating the IP pathway. Lack of hallucinogenic activity of serotonin in humans can be observed, inter alia, after the application of medications which enhance serotonergic transmission, e.g. selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), which in therapeutic doses do not induce hallucinations similar to those caused by LSD [17]. On this basis, attempts were made to explain differences between 5-HT<sub>2A</sub> receptor agonists in the ability to induce hallucinations. Research conducted in the following years has shown that not all compounds displaying functional selectivity in relation to the pathway associated with the release of arachidonic acid induce hallucinogenic effects, giving lisuride, a close structural analogue of LSD, the drug used in Parkinson’s disease, as an example [18–20]. In the light of the conducted studies, no clear interrelation between hallucinogenic effects and one of the pathways was observed. However, attention was drawn to the more complex nature of the pathway leading to the release of AA, e.g. in terms of a greater number of G proteins (Gai/o, Ga12/13) involved in coupling in relation to IP accumulation (Gaq)

Zjawisko to określa się mianem selektywności funkcjonalnej (*functional selectivity*) lub stronniczego agonizmu (od angielskiego terminu *biased agonism*) (ryc. 1) [13–15]. Molekularną podstawą selektywności funkcjonalnej jest więc selekcja konformacyjna dokonywana na celu biologicznym przez odpowiedni ligand. Należy także podkreślić, że dany ligand może nie tylko w różnym stopniu aktywować różne ścieżki przekazywania sygnału, ale jednocześnie wykazywać właściwości agonistyczne względem jednej z nich, a względem drugiej zachować się jak antagonistę [16].

W świetle powyższego selektywność funkcjonalna daje możliwość oddzielenia efektu terapeutycznego od niepożądanych efektów ubocznych, uważanych dotąd za nierozdzielnie powiązane z mechanizmem działania. Tworzy to nowe możliwości w aspekcie poszukiwania nowych leków, w związku z czym w ostatnich latach selektywność funkcjonalna stała się jednym z najszybciej rozwijających się tematów w farmakologii GPCRs.

## PRZYKŁADY SELEKTYWNOŚCI FUNKCJONALNEJ

Pod koniec lat 90. XX w. podczas badań nad receptorami 5-HT<sub>2A</sub> i 5-HT<sub>2C</sub> zauważono, że różni agoniści tych receptorów mogą preferencyjnie aktywować akumulację fosforanu inozytolu (IP), mediowaną przez fosfolipazę C albo uwalnianie kwasu arachidonowego (AA), za pośrednictwem fosfolipazy A<sub>2</sub>. Stwierdzono, że związki działające halucynogenicznie, takie jak dietyloamid kwasu D-lizergowego (LSD), bufotenina i (±)-1-(2,5-dimetoksy-4-jodofenyl)-2-aminopropan (DOI), sprzyjają uwalnianiu AA, podczas gdy substancje niehalucynogenne, takie jak kwipazyna i 3-trifluorometylofenylpiperazyna (TFMPP), preferencyjnie aktywują szlak IP [6, 17]. To samo dotyczy endogennego liganda receptora 5-HT<sub>2A</sub>, czyli serotoniny, która może być również uznana za stronniczego agonistę, selektywnie pobudzającego ścieżkę IP. Brak aktywności halucynogennej serotoniny u człowieka można stwierdzić m.in. po zastosowaniu leków nasilających transmisję serotonergiczną, np. selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI), które w dawkach terapeutycznych nie wywołują halucynacji, podobnych zastosowaniu LSD [17]. Na tej podstawie próbowano wytłumaczyć różnice między agonistami receptora 5-HT<sub>2A</sub> w zdolności do wywoływania halucynacji. Badania prowadzone w kolejnych latach wykazały jednak, że nie wszystkie związki cechujące się selektywnością funkcjonalną względem ścieżki związanej z uwalnianiem kwasu arachidonowego wywołują efekt halucynogeny, podając jako przykład bliski analog strukturalny LSD – lizuryd, lek stosowany w chorobie Parkinsona [18–20]. W świetle przeprowadzonych badań nie zaobserwowano wyraźnego powiązania efektu halucynogennego z jedną ze ścieżek, zwrócono jednak uwagę na bardziej złożoną naturę ścieżki prowadzącej do uwalniania AA, np. w zakresie większej liczby zaangażowanych



[19, 21]. In recent years, different roles of  $\beta$ -arrestin in mediation of pharmacological effects of hallucinogens and serotonin were also identified [22]. It was found that  $\beta$ -arrestin plays an important role in mediation of effects induced by serotonin (abrogation of the initiation of the internalisation and the head-twitch response in  $\beta$ -arrestin knockout mice), while no such a role of  $\beta$ -arrestin was observed in the case of hallucinogenic effects of DOI (no differences in effects in mice with  $\beta$ -arrestin gene and in  $\beta$ -arrestin knockout mice) [21, 22].

Taking into account the possibilities for increasing the therapeutic potential, many programs devoted to find new biologically active substances have been focused on the identification of ligands capable of maximally selective activation of a selected intracellular signal transduction pathway, i.e. functionally selective agonists. Biased agonism, has been identified for many therapeutically important GPCRs such as  $\alpha_1$ - and  $\beta$ -adrenergic receptors [16, 23–25],  $\mu$ -opioid receptors (MOR) [26, 27], cannabinoid receptors [28, 29],  $D_{2L}$  and  $D_1$  dopamine receptors [30–33], serotonin receptors [17, 34, 35], chemokine receptor CCR7 [36, 37], gonadotropin-releasing hormone receptors [38, 39], parathyroid hormone 1 receptors (PTH1R) [40, 41], angiotensin 1A ( $AT_{1A}$ ) receptors [42] or MC4 melanocortin receptors [43].

Functional selectivity was also identified in the case of already known and widely used drugs, which made it possible to explain their specific pharmacological properties. One of the examples of this type is methadone, MOR agonist, used in opioid addiction therapies, which is characterised by lower addictive potential than morphine and heroin. In one of the studies, it was found that methadone, but not morphine, strongly induced the internalisation of MOR, which was accompanied by the active recruitment of  $\beta$ -arrestin-2 in tests on the cell line with overexpression of  $\mu$ -opioid receptors. It should also be emphasised that methadone did not show a significant level of interaction with NMDA receptor whose role in the activity of methadone was previously suggested. On this basis, a hypothesis was put forward that specific pharmacology of methadone can be the result of biased agonism towards the  $\beta$ -arrestin-2 pathway [44].

Key observations in terms of interrelation between therapeutic effects and adverse effects of MOR agonists were made by Bohn *et al.* Studies on  $\beta$ -arrestin-2 knockout mice have shown that the analgesic activity is mediated by G protein-dependent activation of adenylate cyclase, while adverse effects such as respiratory depression or gastrointestinal dysfunction, as well as tolerance to analgesic effect are dependent on the stimulation of  $\beta$ -arrestin-2 [45]. On this basis, it was suggested that the ligand which would promote the coupling of  $\mu$ -opioid receptor with G proteins, but not with  $\beta$ -arrestins, could have greater analgesic efficacy and lower side effects than morphine.

w sprzężenie białek G ( $G_{ai/o}$ ,  $G_{a12/13}$ ) w stosunku do akumulacji IP ( $G_{aq}$ ) [19, 21]. W ostatnich latach wskazano również na zróżnicowaną rolę  $\beta$ -arestyny w mediacji efektów farmakologicznych halucynogenów i serotoniny [22]. Stwierdzono, że  $\beta$ -arestyna ma istotne znaczenie w mediowaniu efektów wywołanych przez serotoninę (zanik inicjacji internalizacji oraz efektu „potrząsania głową” u myszy z wyłączonym genem  $\beta$ -arestyny), podczas gdy nie stwierdzono takiej roli  $\beta$ -arestyny w przypadku działania halucynogenowego DOI (brak różnic w efektach u myszy z obecnym i wyłączonym genem  $\beta$ -arestyny) [21, 22].

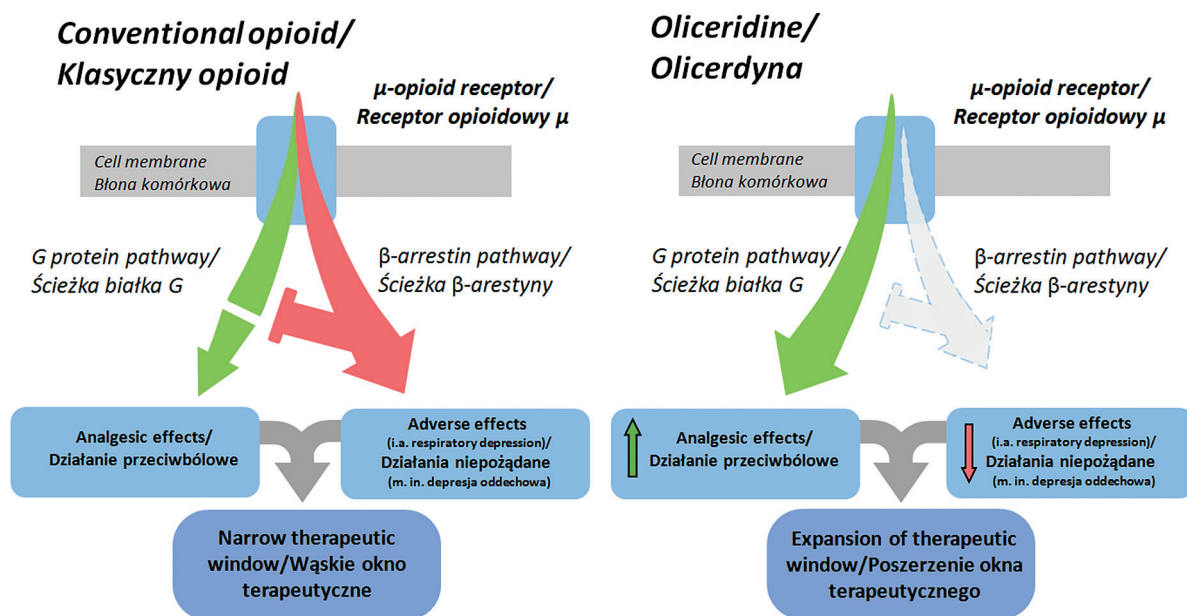
Biorąc pod uwagę możliwości w zakresie zwiększenia potencjału terapeutycznego, wiele programów poszukiwania nowych substancji biologicznie aktywnych zostało poświęconych identyfikacji ligandów zdolnych do maksymalnie selektywnej aktywacji wybranej ścieżki przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego, czyli agonistów selektywnych funkcjonalnie. Stronniczy agonizm został zidentyfikowany dla wielu ważnych terapeutycznie celów z rodziny GPCRs, takich jak receptory  $\alpha_1$ - i  $\beta$ -adrenergiczne [16, 23–25],  $\mu$ -opioidowe (MOR) [26, 27], kannabinoidowe [28, 29],  $D_{2L}$ - i  $D_1$ -dopaminowe [30–33], serotoninowe [17, 34, 35], chemokin CCR7 [36, 37], hormonu uwalniającego gonadotropinę [38, 39], hormonu przytarczyc typu 1 (PTH1R) [40, 41], angiotensynowe 1A ( $AT_{1A}$ ) [42] czy receptor dla melanokortyny MC4 [43].

Selektywność funkcjonalną zidentyfikowano również w przypadku znanych i stosowanych już powszechnie leków, co pozwoliło wytłumaczyć ich szczególne właściwości farmakologiczne. Jednym z przykładów tego typu jest metadon, agonista MOR stosowany w terapii uzależnienia od opioidów, który charakteryzuje się niższym potencjałem uzależniającym od morfiny i heroiny. W jednym z badań stwierdzono, że metadon, ale nie morfina, silnie indukował internalizację MOR, której towarzyszyła aktywna rekrutacja  $\beta$ -arestyny 2 w testach na linii komórkowej z nadekspresją receptorów  $\mu$ -opioidowych. Co również należy podkreślić, metadon nie wykazywał istotnego poziomu interakcji z receptorem NMDA, którego rola w aktywności metadonu była wcześniej sugerowana. Na tej podstawie wysunięto hipotezę, że specyficzna farmakologia metadonu może być skutkiem stronniczego agonizmu wobec ścieżki  $\beta$ -arestyny 2 [44].

Istotne obserwacje w zakresie powiązania efektów terapeutycznych i działań niepożądanych agonistów MOR poczynili Bohn i wsp. W badaniach na myszach z wyłączonym genem  $\beta$ -arestyny 2 stwierdzono, że aktywność analgetyczna jest mediowana poprzez zależną od białka G aktywację cykazy adenylanowej, podczas gdy działania niepożądane, takie jak depresja oddechowa czy zaburzenia żołądkowo-jelitowe, a także tolerancja na efekt przeciwbólowy, są zależne od stymulacji  $\beta$ -arestyny 2 [45]. Na tej podstawie zasugerowano, że ligand, który promowałby sprzężenie receptora  $\mu$ -opioidowego z białkami G, ale nie z  $\beta$ -arestynami, mógłby charakteryzować się wyższą skutecznością przeciwbólową i niższymi działaniami niepożądanymi niż morfina.

This hypothesis became the basis for the work carried out in recent years by the pharmaceutical company Trevena whose main area of activity is searching for drug candidates among the molecules that exhibit functional selectivity. An interesting finding in this respect is oliceridine (TRV130), a new MOR ligand functionally selective towards G protein, developed by Trevena (Fig. II) [46]. In *in vitro* studies, oliceridine induces strong activation of signal transduction via G protein, with the activity and efficiency similar to morphine, but with a much lower ability to recruit  $\beta$ -arrestin and internalise the receptor. In mice and rats, it was characterised by strong analgesic effects, but a significantly lower impact on motor activity of the gastrointestinal tract or the respiratory centre function than morphine in equivalent doses [47]. Thus, oliceridine provides further evidence that the signalling pathways responsible for analgesic effects and adverse effects resulting from stimulation of MOR are different and possible to differentiate. Bearing in mind that oliceridine may be a safer and better tolerated drug than morphine in the treatment of acute pain, the U.S. Food and Drug Administration (FDA) granted it break-

Hipoteza ta stała się podstawą dla prac prowadzonych w ostatnich latach przez firmę farmaceutyczną Trevena, której głównym obszarem aktywności jest poszukiwanie kandydatów na leki wśród molekuł wykazujących selektywność funkcjonalną. Interesującym odkryciem jest w tym względzie opracowana przez firmę Trevena oliceridyna, inaczej TRV130, nowy ligand MOR, selektywny funkcjonalnie wobec białka G (ryc. II) [46]. W badaniach *in vitro* oliceridyna wywołuje silną aktywację przekazywania sygnału przez białko G, z aktywnością i efektywnością podobną do morfiny, ale znacznie niższą zdolnością do rekrutacji  $\beta$ -arestyny i internalizacji receptora. U myszy i szczurów charakteryzowało ją natomiast silne działanie przeciwbólowe, ale znacząco mniejszy wpływ na motorykę przewodu pokarmowego czy funkcję ośrodkowego oddechu niż morfiny w równoważnych dawkach [47]. Oliceridyna dostarcza więc kolejnych dowodów, że ścieżki sygnalizacyjne odpowiedzialne za efekty przeciwbólowe i działania niepożądane, będące skutkiem pobudzenia MOR, są odmienne i możliwe do różnicowania. Mając na uwadze, że oliceridyna może być bezpieczniejszym i lepiej tolerowanym lekiem w terapii ostrego bólu niż morfina, amerykańska Agencja Leków i Żywności (*Food and Drug*



**Figure II.** Comparison of the mechanism of action of conventional opioids – e.g. morphine, and biased agonist of  $\mu$ -opioid receptors – oliceridine. The analgesic activity of morphine is mediated by G protein dependent activation of adenylate cyclase, while side effects such as respiratory depression or gastro-intestinal tolerance and analgesic effect are dependent on stimulation of  $\beta$ -arrestin. Oliceridine induces strong activation of signaling via G protein, but has much less ability to recruit  $\beta$ -arrestin. It is characterized, therefore, by a strong analgesic effect, but significantly less side effects and tolerance

**Rycina II.** Porównanie działania klasycznych opioidów – np. morfiny, i stronniczego agonisty MOR – oliceridyny. Aktywność analgetyczna morfiny jest mediowana poprzez zależną od białka G aktywację cykazy adenylanowej, podczas gdy działania niepożądane, takie jak depresja oddechowa czy zaburzenia żołądkowo-jelitowe, a także tolerancja na efekt przeciwbólowy, są zależne od stymulacji  $\beta$ -arestyny. Oliceridyna wywołuje silną aktywację przekazywania sygnału przez białko G, ale znacznie niższą zdolnością do rekrutacji  $\beta$ -arestyny. Charakteryzuje ją w związku z tym silne działanie przeciwbólowe, ale znacząco niższe działania niepożądane i tolerancja

through therapy designation in February 2016, and considering promising results of clinical phase I and II trials, recruitment of patients for phase III trials started in January 2017.

Numerous studies have suggested that functional selectivity towards dopamine  $D_2$  receptor could be the basis for the desired profile of antipsychotic effect [30, 31, 48, 49]. However, their results are sometimes divergent. For example, Masri *et al.* showed that one of the modern antipsychotics, namely aripiprazole, behaved like a strong agonist of the G-protein dependent pathway, including inhibition of cyclic adenosine monophosphate (cAMP), and as an antagonist of the recruitment of  $\beta$ -arrestin [49]. In the same study, it was shown, that  $\beta$ -arrestin is involved in mediation of the activation of protein kinase B (Akt)/protein phosphatase 2A (PP2A)/glycogen synthase kinase 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) signalling, which is disturbed in both schizophrenia and bipolar disorder [50–52]. It was also suggested, that selective targeting of this signalling pathway may provide new opportunities for antipsychotics development [49]. Lithium was found to inhibit GSK-3, both directly and through an indirect mechanism that destabilizes the D2R-mediated  $\beta$ -arrestin 2/Akt/GSK-3 signaling complex [53, 54]. More recently, the effects of cariprazine on Akt/GSK-3 signaling were suggested to play a role in its anti-manic efficacy [55].

On the other hand, Allen *et al.* have developed a series of structural aripiprazole analogues which turned out to be  $D_2$  receptor ligands displaying biased agonism towards the recruitment of  $\beta$ -arrestin [48]. What is important, one of these derivatives showed strong antipsychotic activity in vivo but produced no catalepsy. Interestingly, in  $\beta$ -arrestin-2 knockout mice, the same compound displayed much weaker antipsychotic activity and catalepsy was observed. These observations stand in some contradiction to those mentioned earlier, suggesting that it was antagonism towards  $\beta$ -arrestin mediated signalling that was responsible for antipsychotic activity of aripiprazole [49]. Concluding, further research is warranted to explain which  $D_2$  receptor signalling pathway is crucial for antipsychotic activity and which is responsible for induction of undesired effects. At the same time one must not overlook the fact that differences in functional selectivity of  $D_2$  dopamine receptor ligands can become the basis for the development of new better antipsychotics.

## THE ROLE OF 5-HT<sub>1A</sub> RECEPTORS AS THERAPEUTIC TARGETS

5-HT<sub>1A</sub> serotonin receptors play a key role in the regulation of a number of functions of the central nervous system (CNS). It is associated with their presence as both presynaptic autoreceptors in raphe nucleus

Administration – FDA przyznała jej w lutym 2016 r. status terapii przełomowej (*breakthrough therapy*), a wobec obiecujących wyników badań w fazach klinicznych I i II w styczniu 2017 r. rozpoczęto rekrutację pacjentów do badań fazy III.

Liczne badania sugerują, że selektywność funkcjonalna wobec receptora dopaminowego  $D_2$  może stanowić podstawę pożądanego profilu działania leków przeciwpsychotycznych [30, 31, 48, 49]. Ich wyniki bywają jednak rozbieżne. Dla przykładu, Masri i wsp. pokazali, że jeden z nowoczesnych leków przeciwpsychotycznych – aripiprazol, zachowywał się jak silny agonista szlaku zależnego od białka G związanego z hamowaniem syntezy cyklicznego adenozyνομonofosforanu (cAMP), a jak antagonistą rekrutacji  $\beta$ -arestyny [49]. W tym samym badaniu wykazano, że  $\beta$ -arestyna pośredniczy w aktywacji sygnalizacji przebiegającej przez kinazę białkową B (Akt)/fosfatazę białkową A2 (PP2A)/kinazę syntazy glikogenu 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ), która jest zaburzona zarówno w schizofrenii, jak i chorobie afektywnej dwubiegunowej [50–52]. Sugerowano też, że selektywne celowanie w tę właśnie ścieżkę przekazywania sygnału może dostarczyć nowych możliwości dla rozwoju leków przeciwpsychotycznych [49]. Stwierdzono także, że lit wykazuje hamujący wpływ na kinazę GSK-3, zarówno w mechanizmie bezpośrednim, jak i pośrednim, prowadząc do destabilizacji kompleksu sygnalizacyjnego  $\beta$ -arestyna 2/Akt/GSK-3 aktywowanego przez receptory  $D_2$  [53, 54]. Ostatnio zasugerowano też, że aktywność kariprazyny wobec ścieżki sygnalizacji Akt/GSK-3 może odgrywać zasadniczą rolę w jej skuteczności antymaniakalnej [55].

Z drugiej strony Allen i wsp. opracowali serię analogów strukturalnych aripiprazolu, które okazały się ligandami receptora  $D_2$  wykazującymi stronniczy agonizm wobec rekrutacji  $\beta$ -arestyny [48]. Co istotne, jedna z tych pochodnych wykazała silną aktywność przeciwpsychotyczną *in vivo*, ale nie wywoływała katalepsji. Interesujące jest, że u myszy z wyłączonym genem  $\beta$ -arestyny 2 ten sam związek wykazywał zdecydowanie słabszą aktywność przeciwpsychotyczną oraz zaobserwowano katalepsję. Obserwacje te stoją w pewnej sprzeczności z przytoczonymi wcześniej sugestiami, że to antagonizm wobec ścieżki sygnalizacji poprzez  $\beta$ -arestynę jest odpowiedzialny za aktywność przeciwpsychotyczną aripiprazolu [49]. Podsumowując, konieczne są dalsze badania w celu wyjaśnienia, która ścieżka sygnalizacji związana z receptorem  $D_2$  ma kluczowe znaczenie dla aktywności przeciwpsychotycznej, a która jest odpowiedzialna za wywoływanie efektów niepożądanych. Jednocześnie nie sposób nie zauważyć, że różnice w selektywności funkcjonalnej ligandów receptora dopaminowego  $D_2$  mogą stać się podstawą do opracowania nowych, korzystniejszych leków przeciwpsychotycznych.

## ROLA RECEPTORÓW 5-HT<sub>1A</sub> JAKO CELÓW TERAPEUTYCZNYCH

Receptory serotoninowe typu 5-HT<sub>1A</sub> odgrywają kluczową rolę w regulacji szeregu funkcji ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Jest to związane z ich występowaniem



(where serotonin neurons bodies are located) and as postsynaptic receptors in limbic and cortical parts of the brain, involved in the regulation of mood, cognitive function and motor control [56]. These receptors for many years have been the subject of research on serotonergic transmission dysfunction in such disorders as anxiety disorder, depression, Parkinson's disease, pain and schizophrenia. The role of individual subpopulations of 5-HT<sub>1A</sub> receptors became the subject of discussion related to their diverse (often contradictory) physiological and behavioural effects.

It was found that 5-HT<sub>1A</sub> receptors bind to the broadest panel of secondary transmitters from among all serotonin receptors. The main signal transduction pathway associated with activation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors is the inhibition of adenylate cyclase (AC) and reduction in the activity of protein kinase A (PKA). Nevertheless, except for this mechanism, there is also stimulation of other signal transduction pathways involved in the activation or inhibition of various enzymes (e.g. phospholipase C, nitric oxide synthase), ion channels (e.g., K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>), as well as protein kinases (e.g. protein kinase C, mitogen-activated protein kinases) [35]. Results of recent studies suggest that it is possible to pharmacologically "target" subpopulations of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in different brain structures [57]. It is related to the fact that 5-HT<sub>1A</sub> receptors located in different areas of the brain are associated with different signal transduction pathways and thus can be selectively activated by biased agonists which preferentially activate individual intracellular signal transduction mechanisms [58-62]. Thus, it seems that functional selectivity can be the basis for regional selectivity. Pharmacological effects on 5-HT<sub>1A</sub> receptors in different regions of the brain can in turn be of key importance for the studies on CNS dysfunction, as well as its pharmacotherapy [57].

Activation of postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in cortical areas is a common mechanism of action of antidepressants [56, 63]. On the other hand, activation of presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors is responsible for the inhibition of serotonergic transmission and hence delayed onset of action of antidepressants. Recent studies have shown that the reduction in the activity of presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors increases the response to antidepressants [64, 65]. These observations indicate that preferential activation of postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors (without affecting autoreceptors) can ensure accelerated and more effective therapy against depression compared to the currently applied one which has a generalised impact on serotonergic transmission (Fig. III).

Potential role of presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the treatment of Parkinson's disease (PD) has also been found. Dyskinesias observed in PD patients undergoing long-term treatment with levodopa may be due to the release of dopamine by serotonin neurons, which is produced by them from the previously absorbed levodopa.

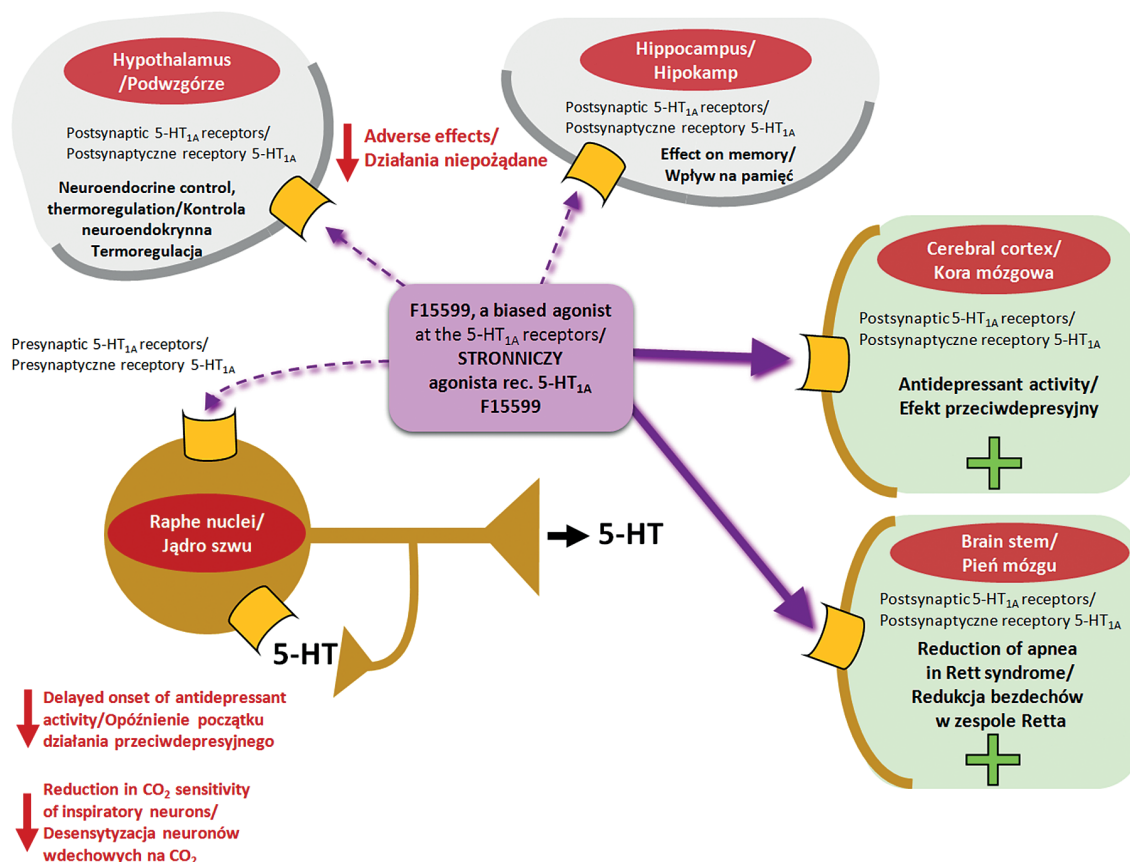
zarówno jako presynaptycznych autoreceptorów w jądrze szwu (gdzie są zlokalizowane ciała neuronów serotoninowych), jak i receptorów postsynaptycznych w limbicznych i korowych częściach mózgu, zaangażowanych w regulację nastroju, funkcji poznawczych oraz kontrolę motoryczną [56]. Receptory te od wielu lat stanowią przedmiot badań nad dysfunkcją transmisji serotoninergetycznej w takich schorzeniach, jak: zaburzenia lękowe, depresja, choroba Parkinsona, zespoły bólowe czy schizofrenia. Rola poszczególnych subpopulacji receptorów 5-HT<sub>1A</sub> stała się przedmiotem rozważań związanych z ich zróżnicowanymi (niejednokrotnie przeciwstawnymi) efektami fizjologicznymi i behawioralnymi.

Stwierdzono, że receptory 5-HT<sub>1A</sub> wiążą się z najszerszym panelem wtórnych przekazników spośród wszystkich receptorów serotoninowych. Główną ścieżką przekazywania sygnału, związaną z aktywacją receptorów 5-HT<sub>1A</sub>, jest hamowanie cykazy adenylanowej (AC) i obniżenie aktywności kinazy białkowej A (PKA). Niemniej jednak, poza tym mechanizmem dochodzi również do stymulacji innych ścieżek transdukcji sygnału zaangażowanych w aktywację lub hamowanie różnych enzymów (np. fosfolipaza C, syntaza tlenu azotu), kanałów jonowych (np. K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>), a także kinaz białkowych (np. kinaza białkowa C, kinazy białkowe aktywowane mitogenami) [35]. Wyniki ostatnich badań wskazują, że możliwe jest farmakologiczne „celowanie” w subpopulacje receptorów 5-HT<sub>1A</sub> w różnych strukturach mózgu [57]. Jest to związane z faktem, iż receptory 5-HT<sub>1A</sub> zlokalizowane w różnych rejonach mózgu są powiązane z odmiennymi szlakami transdukcji sygnału i przez to mogą być selektywnie pobudzane przez stroniczych agonistów, którzy preferencyjnie aktywują poszczególne mechanizmy przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego [58-62]. Wydaje się więc, że selektywność funkcjonalna może być podstawą dla selektywności regionalnej. Oddziaływanie farmakologiczne na receptory 5-HT<sub>1A</sub> w różnych rejonach mózgu może z kolei mieć kluczowe znaczenie dla badań nad zaburzeniami funkcji OUN, a także ich farmakoterapią [57].

Aktywacja postsynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub> w obszarach korowych stanowi wspólny mechanizm działania leków przeciwdepresyjnych [56, 63]. Z drugiej strony, aktywacja presynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub> odpowiada za hamowanie transmisji serotoninergetycznej, a co za tym idzie – opóźniony początek działania leków przeciwdepresyjnych. Ostatnie badania wskazały, że obniżenie aktywności presynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub> nasila odpowiedź na leki przeciwdepresyjne [64, 65]. Obserwacje te wskazują, że preferencyjna aktywacja postsynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub> (bez wpływu na autoreceptory) może zapewnić przyspieszoną i bardziej efektywną terapię przeciwdepresyjną w stosunku do aktualnie stosowanej, wywierającej uogólniony wpływ na transmisję serotoninergetyczną (ryc. III).

Stwierdzono także potencjalną rolę presynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub> w terapii choroby Parkinsona (*Parkinson's disease* – PD). Dyskinezy obserwowane u pacjentów z PD poddanych długotrwałemu leczeniu lewodopą





**Figure III.** Concept of a biased agonist as a molecule preferentially targeting specified subpopulation of 5-hydroxytryptamine 1A receptors (Newman-Tancredi 2011). Activation of the postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the cerebral cortex is responsible for antidepressant activity, while activation of those receptors in the brain stem results in a reduction of apnea in Rett syndrome. Activation of the autoreceptors in the raphe nuclei is associated with inhibition of serotonin release (delayed onset of antidepressant activity) and reduction in CO<sub>2</sub> sensitivity of inspiratory neurons (reduction of breathing regularity). Activation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the hippocampus and hypothalamus can lead to cognitive impairment, and a disruption of thermoregulation and neuroendocrine control. F15599, a biased agonist at the postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors located in the cerebral cortex and brain stem, may have a wider margin between the therapeutic activity and side effects associated with activation of other subpopulations of 5-HT<sub>1A</sub> receptors

**Rycina III.** Koncepcja działania stronniczego agonisty jako cząsteczki „celującej” preferencyjnie w określone subpopulacje receptorów 5-HT<sub>1A</sub> (Newman-Tancredi 2011). Aktywacja postsynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub> w korze mózgowej jest odpowiedzialna za działanie przeciwdepresyjne, a pobudzenie tych receptorów w pniu mózgu skutkuje redukcją bezdechów w zespole Retta. Aktywacja autoreceptorów w jądrach szwu jest powiązana z hamowaniem uwalniania serotoniny (opóźnieniem działania leków przeciwdepresyjnych) oraz obniżeniem wrażliwości neuronów wdechowych na CO<sub>2</sub> (zmniejszenie regularności oddychania). Nadmierne pobudzenie receptorów 5-HT<sub>1A</sub> w hipokampie i podwzgórzu może prowadzić do zaburzeń funkcji poznawczych, termoregulacji i kontroli neuroendokrynną. F15599, stronniczy agonista receptorów postsynaptycznych 5-HT<sub>1A</sub> zlokalizowanych w korze mózgowej i pniu mózgu, może wykazywać szerszy margines między działaniem terapeutycznym a efektami ubocznymi wynikającymi z aktywacji innych subpopulacji receptorów 5-HT<sub>1A</sub>

When serotonin neurons are inactivated, dyskinesias in rats induced by repeated administration of levodopa are reduced. Therefore, the weakening of serotonergic transmission by the activation of presynaptic serotonin neurons in the raphe nucleus can result in reduced levodopa-induced dyskinesias [66].

Unfortunately, the majority of available substances which stimulate 5-HT<sub>1A</sub> receptors is not adapted to study individual sub-populations of these receptors, showing

mogą być skutkiem uwalniania przez neurony serotoninowe dopaminy, która jest przez nie produkowana z pochłoniętej wcześniej lewodopy. Kiedy neurony serotoninowe są inaktywowane, dyskinezy wywołane u szczura wielokrotnymi podaniami lewodopy są zredukowane. W związku z tym osłabienie transmisji serotonergicznej, poprzez aktywację presynaptycznych neuronów serotoninowych w jądrze szwu, może prowadzić do redukcji dyskinez wywołanych lewodopą [66].

insufficient selectivity towards 5-HT<sub>1A</sub> receptors and only partial agonism (e.g. buspirone), or lack of selectivity towards sub-populations of 5-HT<sub>1A</sub> receptors (8-OH-DPAT).

## 5-HT<sub>1A</sub> RECEPTOR AGONISTS DISPLAYING FUNCTIONAL AND REGIONAL SELECTIVITY

A group of scientists from Pierre Fabre described F15599 and F13714 compounds – prototype biased agonists of 5-HT<sub>1A</sub> receptors, characterised by high selectivity towards 5-HT<sub>1A</sub> receptors and specific signal transduction profile [57]. In *in vitro* functional tests, F15599 showed a clear preference (approx. 30x) for activation of phosphorylation of ERK with respect to inhibition of adenylate cyclase. Using electrophysiological studies, microdialysis and neuroimaging, it has been found that it acts preferentially on postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors, especially those located in the cerebral cortex [67, 68]. As a result, it displays high activity in animal models of mood disorders (forced swimming test, ultrasonic vocalisation) [69], and reverses cognitive function deficits in rats induced by a psychotomimetic substance – phencyclidine [70]. F15599 chemical analogue, a F13714 compound, displays, in turn, a contrary profile of “biased” agonism, acting preferentially on presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the raphe nucleus. This compound is characterised by extremely high antidyskinetic activity in the rat model of Parkinson’s disease, supporting the concept of a significant role of presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the control of motor functions, particularly tardive dyskinesias [66].

Recently, a new, previously unknown direction of action of 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists has also been discovered. It has been found that the F15599 compound is able to preferentially activate postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors on inspiratory neurons, thereby reducing breath irregularities and apnoea in mice with MeCP2 gene mutations, as disorders in the expression of this gene lie at the root of Rett syndrome, a severe neurodevelopmental orphan disease [71]. In the light of the above, the F15599 compound was granted the orphan drug status both in Europe and the USA, and with the support of the Rett Syndrome Foundation will be clinically developed in this indication (Fig. III).

In addition to potential therapeutic applications, F15599 and F13714 compounds can also be used as new generation pharmacological tools. For example, they have been recently used in studies describing the role of activation of presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in reducing propensity of brexpiprazole, one of the latest antipsychotics, to induce extrapyramidal side effects [72].

Niestety większość dostępnych substancji pobudzających receptory 5-HT<sub>1A</sub> jest niedostosowana do badania poszczególnych subpopulacji tych receptorów, wykazując niedostateczną selektywność wobec receptora 5-HT<sub>1A</sub> i jedynie częściowy agonizm (np. buspiron) bądź też brak selektywności wobec subpopulacji receptorów 5-HT<sub>1A</sub> (8-OH-DPAT).

## AGONIŚCI RECEPTORA 5-HT<sub>1A</sub> WYKAZUJĄCY SELEKTYWNOŚĆ FUNKCJONALNĄ I REGIONALNĄ

Grupa naukowców z firmy Pierre Fabre opisała związki F15599 i F13714. Są to prototypowi, stronniczy agoniści receptora 5-HT<sub>1A</sub> charakteryzujący się wysoką selektywnością wobec receptorów 5-HT<sub>1A</sub> oraz specyficznym profilem transdukcji sygnału [57]. W testach funkcjonalnych *in vitro* związek F15599 wykazywał wyraźną preferencję (ok. 30 razy) wobec aktywacji fosforylacji kinazy ERK względem inhibicji cyklazy adenylanowej. Wykorzystując badania elektrofizjologiczne, mikrodielizę i neuroobrazowanie, stwierdzono, że oddziałuje on preferencyjnie na postsynaptyczne receptory 5-HT<sub>1A</sub>, szczególnie te zlokalizowane w korze mózgowej [67, 68]. W konsekwencji odznacza się wysoką aktywnością w zwierzęcych modelach zaburzeń nastroju (test wymuszonego pływania, wokalizacja ultradźwiękowa) [69] oraz odwraca deficyty funkcji poznawczych u szczurów wywołane substancją psychozomimetyczną – fencyklidyną [70]. Analog chemiczny F15599 – związek F13714 – wykazuje przeciwny profil „stronniczego” agonizmu, oddziałując preferencyjnie na presynaptyczne receptory 5-HT<sub>1A</sub> w jądrze szwu. Związek ten charakteryzuje się niezwykle silną aktywnością antydyskinetyczną w szczurzym modelu choroby Parkinsona, wspierając koncepcję istotnej roli presynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub> w kontroli funkcji motorycznych, przede wszystkim późnych dyskinez [66].

Ostatnio odkryto również nowy, nieznany wcześniej kierunek działania agonistów receptora 5-HT<sub>1A</sub>. Stwierdzono, że związek F15599 jest w stanie preferencyjnie aktywować postsynaptyczne receptory 5-HT<sub>1A</sub> na neuronach wdychowych, przez co redukuje nieregularności oddechu i bezdechy u myszy z mutacjami genu *MeCP2*. Zaburzenia ekspresji tego genu leżą bowiem u podłoża zespołu Retta – ciężkiej, neurorozwojowej choroby sieroczej [71]. W świetle powyższego związek F15599 uzyskał, zarówno w Europie, jak i USA, status leku sierociego i będzie, przy wsparciu Fundacji Zespołu Retta, rozwijany klinicznie w tym wskazaniu (ryc. III).

Poza potencjalnymi zastosowaniami terapeutycznymi związki F15599 i F13714 mogą być również wykorzystywane jako narzędzia farmakologiczne nowej generacji. Posłużyły one ostatnio np. w badaniach opisujących rolę aktywacji presynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub> w ograniczeniu skłonności brexpiprazolu, jednego z najnowszych leków przeciwpsychotycznych, do wywoływania zaburzeń pozapiramidowych [72].

Recently, F15599 and F13714 have been licensed by the biopharmaceutical company Neurolix and are further developed under the code names NLX-101 and NLX-102, respectively.

## CONCLUSIONS

Multidisciplinary research conducted over the last 25 years made it possible to identify functional selectivity for many biological targets, including a number of those that are significant from the point of view of neuropsychopharmacology, and this issue has become one of the “hot topics” of studies. The most important feature of the “biased agonism” is offering a higher degree of selectivity, covering more than a single neurotransmitter system or receptor, but reaching the preferences for a selected signal transduction pathway from the same receptor. It offers completely new possibilities in the search for drugs, also based on “old”, known for years and clinically validated biological targets, which have reached a certain limit of technological use due to inseparable (as it seemed) linkage between therapeutic effects and adverse effects or mechanisms limiting the efficacy. Functional selectivity seems to be particularly attractive as it offers the opportunity to separate the therapeutic effect from unwanted side effects mediated by one and the same receptor. Such a pharmacological effect was previously unattainable, but it can become feasible thanks to the use of this element of the nature of biological targets, which is the possibility of selective or preferential activation of specific signalling pathways through the development of appropriate new active compounds. It can also become the basis for the development of new, more effective and safer drugs.

Niedawno związki F15599 i F13714 zostały licencjonowane przez firmę biofarmaceutyczną Neurolix i są przez nią dalej rozwijane pod nazwami kodowymi, odpowiednio, NLX-101 i NLX-102.

## PODSUMOWANIE

Multidyscyplinarne badania prowadzone na przestrzeni ostatnich 25 lat pozwoliły na identyfikację selektywności funkcjonalnej dla wielu celów biologicznych, w tym szeregu istotnych z punktu widzenia neuropsychofarmakologii, a problematyka ta stała się jednym z „gorących tematów” badań. Najistotniejszą cechą stronniczego agonizmu jest wszakże oferowanie wyższego stopnia selektywności, wychodzącego ponad pojedynczy układ neuroprzekaźnikowy czy receptor, ale sięgającego preferencji wobec wybranej ścieżki przekazywania sygnału pochodzącej od tego samego receptora. Stwarza to zupełnie nowe możliwości w zakresie poszukiwania leków, także w oparciu o „stare”, znane od dawna i klinicznie zwalidowane cele biologiczne, które jednak osiągnęły pewien pułap eksploatacji technologicznej, w związku z nierozzerwalnym (jak się wydawało) powiązaniem efektów terapeutycznych z działaniami niepożądanymi lub mechanizmami ograniczającymi skuteczność. Selektywność funkcjonalna wydaje się szczególnie atrakcyjna, gdyż oferuje możliwość oddzielenia efektu terapeutycznego od niechcianych efektów ubocznych, w których pośredniczy jeden i ten sam receptor. Takie oddziaływanie farmakologiczne było wcześniej nieosiągalne, ale może stać się realne dzięki wykorzystaniu tego elementu natury celów biologicznych, jaką jest możliwość wybiórczej lub preferencyjnej aktywacji określonych szlaków sygnałowych, poprzez opracowywanie odpowiednich, nowych związków aktywnych. Może się to również stać się podstawą do opracowania nowych, skuteczniejszych i bezpieczniejszych leków.

---

### Conflict of interest/Konflikt interesu

Absent./Nie występuje.

### Financial support/Finansowanie

The study was financed from the grant NCN Nr DEC-2015/19/B/NZ7/03543./Praca powstała w ramach grantu NCN nr DEC-2015/19/B/NZ7/03543.

### References/Piśmiennictwo

1. Lee Y, Basith S, Choi S. Recent Advances in Structure-Based Drug Design Targeting Class A G Protein-Coupled Receptors Utilizing Crystal Structures and Computational Simulations. *J Med Chem* 2017; doi:10.1021/acs.jmedchem.6b01453.
2. Leff P. The two-state model of receptor activation. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 89-97.
3. Park PS, Lodowski DT, Palczewski K. Activation of G protein-coupled receptors: beyond two-state models and tertiary conformational changes. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008; 48: 107-141.

4. Kobilka BK, Deupi X. Conformational complexity of G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2007; 28: 397-406.
5. Chilmonec Z, Bojarski AJ, Sylte I. Ligand-directed trafficking of receptor stimulus. *Pharmacol Rep PR* 2014; 66: 1011-1021.
6. Shonberg J, Lopez L, Scammells PJ, Christopoulos A, Capuano B, Lane JR. Biased agonism at G protein-coupled receptors: the promise and the challenges – a medicinal chemistry perspective. *Med Res Rev* 2014; 34: 1286-1330.
7. Reiter E, Ahn S, Shukla AK, Lefkowitz RJ. Molecular mechanism of  $\beta$ -arrestin-biased agonism at seven-transmembrane receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2012; 52: 179-197.
8. Luttrell LM. Transmembrane signaling by G protein-coupled receptors. *Methods Mol Biol Clifton NJ* 2006; 332: 3-49.
9. Birnbaumer L. The discovery of signal transduction by G proteins: a personal account and an overview of the initial findings and contributions that led to our present understanding. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1768: 756-771.
10. Violin JD, Lefkowitz RJ. Beta-arrestin-biased ligands at seven-transmembrane receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2007; 28: 416-422.
11. Shukla AK, Xiao K, Lefkowitz RJ. Emerging paradigms of  $\beta$ -arrestin-dependent seven transmembrane receptor signaling. *Trends Biochem Sci* 2011; 36: 457-469.
12. Kenakin T. Collateral efficacy in drug discovery: taking advantage of the good (allosteric) nature of 7TM receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2007; 28: 407-415.
13. Stallaert W, Christopoulos A, Bouvier M. Ligand functional selectivity and quantitative pharmacology at G protein-coupled receptors. *Expert Opin Drug Discov* 2011; 6: 811-825.
14. Kenakin T. Functional selectivity and biased receptor signaling. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 336: 296-302.
15. Kenakin T, Watson C, Muniz-Medina V, Christopoulos A, Novick S. A simple method for quantifying functional selectivity and agonist bias. *ACS Chem Neurosci* 2012; 3: 193-203.
16. Galandrin S, Bouvier M. Distinct Signaling Profiles of  $\beta$ 1 and  $\beta$ 2 Adrenergic Receptor Ligands toward Adenyl Cyclase and Mitogen-Activated Protein Kinase Reveals the Pluridimensionality of Efficacy. *Mol Pharmacol* 2006; 70: 1575-1584.
17. Berg KA, Maayani S, Goldfarb J, Scaramellini C, Leff P, Clarke WP. Effector pathway-dependent relative efficacy at serotonin type 2A and 2C receptors: evidence for agonist-directed trafficking of receptor stimulus. *Mol Pharmacol* 1998; 54: 94-104.
18. Moya PR, Berg KA, Gutiérrez-Hernandez MA, Sáez-Briones P, Reyes-Parada M, Cassels BK, et al. Functional selectivity of hallucinogenic phenethylamine and phenylisopropylamine derivatives at human 5-hydroxytryptamine (5-HT)<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 321: 1054-1061.
19. Kurrasch-Orbaugh DM, Parrish JC, Watts VJ, Nichols DE. A complex signaling cascade links the serotonin<sub>2A</sub> receptor to phospholipase A<sub>2</sub> activation: the involvement of MAP kinases. *J Neurochem* 2003; 86: 980-991.
20. Kurrasch-Orbaugh DM, Watts VJ, Barker EL, Nichols DE. Serotonin 5-hydroxytryptamine 2A receptor-coupled phospholipase C and phospholipase A<sub>2</sub> signaling pathways have different receptor reserves. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 304: 229-237.
21. Stroth N, Svenningsson P. Ligand-specific differential regulation of 5-hydroxytryptamine receptors: Functional selectivity in serotonergic signaling. *Wiley Interdiscip Rev Membr Transp Signal* 2012; 1: 453-466.
22. Abbas A, Roth BL. Arresting serotonin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 831-832.
23. Evans BA, Broxton N, Merlin J, Sato M, Hutchinson DS, Christopoulos A, et al. Quantification of functional selectivity at the human  $\alpha$ (1A)-adrenoceptor. *Mol Pharmacol* 2011; 79: 298-307.
24. da Silva Junior ED, Sato M, Merlin J, Broxton N, Hutchinson DS, Ventura S, et al. Factors influencing biased agonism in recombinant cells expressing the human  $\alpha$ 1A-adrenoceptor. *Br J Pharmacol* 2017; 174: 2318-2333.
25. Galandrin S, Oligny-Longpré G, Bonin H, Ogawa K, Galés C, Bouvier M. Conformational rearrangements and signaling cascades involved in ligand-biased mitogen-activated protein kinase signaling through the beta1-adrenergic receptor. *Mol Pharmacol* 2008; 74: 162-172.
26. Bohn LM, Lefkowitz RJ, Gainetdinov RR, Peppel K, Caron MG, Lin FT. Enhanced morphine analgesia in mice lacking beta-arrestin 2. *Science* 1999; 286: 2495-2498.
27. Sternini C, Spann M, Anton B, Keith DE, Bunnett NW, von Zastrow M, et al. Agonist-selective endocytosis of mu opioid receptor by neurons in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 9241-9246.
28. Diez-Alarcia R, Ibarra-Lecue I, Lopez-Cardona AP, Meana J, Gutierrez-Adán A, Callado LF, et al. Biased Agonism of Three Different Cannabinoid Receptor Agonists in Mouse Brain Cortex. *Front Pharmacol* 2016; 7: 415.
29. Khajehali E, Malone DT, Glass M, Sexton PM, Christopoulos A, Leach K. Biased Agonism and Biased Allosteric Modulation at the CB1 Cannabinoid Receptor. *Mol Pharmacol* 2015; 88: 368-379.
30. Mottola DM, Kilts JD, Lewis MM, Connery HS, Walker QD, Jones SR, et al. Functional Selectivity of Dopamine Receptor Agonists. I. Selective Activation of Postsynaptic Dopamine D<sub>2</sub> Receptors Linked to Adenylate Cyclase. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301: 1166-1178.
31. Chen X, McCorvy JD, Fischer MG, Butler KV, Shen Y, Roth BL, et al. Discovery of G Protein-Biased D<sub>2</sub> Dopamine Receptor Partial Agonists. *J Med Chem* 2016; 59: 10601-10618.
32. Ryman-Rasmussen JP, Nichols DE, Mailman RB. Differential activation of adenylate cyclase and receptor internalization by novel dopamine D<sub>1</sub> receptor agonists. *Mol Pharmacol* 2005; 68: 1039-1048.
33. Ryman-Rasmussen JP, Griffith A, Oloff S, Vaidehi N, Brown JT, Goddard WA, et al. Functional selectivity of dopamine D<sub>1</sub> receptor agonists in regulating the fate of internalized receptors. *Neuropharmacology* 2007; 52: 562-575.



34. Newman-Tancredi A, Martel J-C, Assié M-B, Buritova J, Laressergues E, Cosi C, et al. Signal transduction and functional selectivity of F15599, a preferential post-synaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 338-353.
35. Chilmoneczyk Z, Bojarski AJ, Pilc A, Sylte I. Functional Selectivity and Antidepressant Activity of Serotonin 1A Receptor Ligands. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 18474-18506.
36. Kohout TA, Nicholas SL, Perry SJ, Reinhart G, Junger S, Struthers RS. Differential desensitization, receptor phosphorylation, beta-arrestin recruitment, and ERK1/2 activation by the two endogenous ligands for the CC chemokine receptor 7. *J Biol Chem* 2004; 279: 23214-23222.
37. Hauser MA, Legler DF. Common and biased signaling pathways of the chemokine receptor CCR7 elicited by its ligands CCL19 and CCL21 in leukocytes. *J Leukoc Biol* 2016; 99: 869-882.
38. Kraus S, Naor Z, Seger R. Intracellular signaling pathways mediated by the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor. *Arch Med Res* 2001; 32: 499-509.
39. McArdle CA. Gonadotropin-releasing hormone receptor signaling: biased and unbiased. *Mini Rev Med Chem* 2012; 12: 841-850.
40. Bohinc BN, Gesty-Palmer D. Biased agonism at the parathyroid hormone receptor: a demonstration of functional selectivity in bone metabolism. *Mini Rev Med Chem* 2012; 12: 856-865.
41. Gesty-Palmer D, Flannery P, Yuan L, Corsino L, Spurney R, Lefkowitz RJ, et al. A beta-arrestin-biased agonist of the parathyroid hormone receptor (PTH1R) promotes bone formation independent of G protein activation. *Sci Transl Med* 2009; 1: 1ra1.
42. Wei H, Ahn S, Shenoy SK, Karnik SS, Hunyady L, Luttrell LM, et al. Independent beta-arrestin 2 and G protein-mediated pathways for angiotensin II activation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 10782-10787.
43. Nickolls SA, Fleck B, Hoare SRJ, Maki RA. Functional selectivity of melanocortin 4 receptor peptide and nonpeptide agonists: evidence for ligand-specific conformational states. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 313: 1281-1288.
44. Doi S, Mori T, Uzawa N, Arima T, Takahashi T, Uchida M, et al. Characterization of methadone as a  $\beta$ -arrestin-biased  $\mu$ -opioid receptor agonist. *Mol Pain* 2016; 12.
45. Raehal KM, Walker JKL, Bohn LM. Morphine side effects in beta-arrestin 2 knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 314: 1195-1201.
46. Chen X-T, Pitis P, Liu G, Yuan C, Gotchev D, Cowan CL, et al. Structure-activity relationships and discovery of a G protein biased  $\mu$  opioid receptor ligand, [(3-methoxythiophen-2-yl)methyl]({2-[(9R)-9-(pyridin-2-yl)-6-oxaspiro-[4.5]decan-9-yl]ethyl})amine (TRV130), for the treatment of acute severe pain. *J Med Chem* 2013; 56: 8019-8031.
47. DeWire SM, Yamashita DS, Rominger DH, Liu G, Cowan CL, Graczyk TM, et al. A G protein-biased ligand at the  $\mu$ -opioid receptor is potentially analgesic with reduced gastrointestinal and respiratory dysfunction compared with morphine. *J Pharmacol Exp Ther* 2013; 344: 708-717.
48. Allen JA, Yost JM, Setola V, Chen X, Sassano MF, Chen M, et al. Discovery of  $\beta$ -arrestin-biased dopamine D<sub>2</sub> ligands for probing signal transduction pathways essential for antipsychotic efficacy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 18488-18493.
49. Masri B, Salahpour A, Didriksen M, Ghisi V, Beaulieu JM, Gainetdinov RR, et al. Antagonism of dopamine D<sub>2</sub> receptor/beta-arrestin 2 interaction is a common property of clinically effective antipsychotics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 13656-13661.
50. Emamian ES, Hall D, Birnbaum MJ, Karayiorgou M, Gogos JA. Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3 $\beta$  signaling in schizophrenia. *Nat Genet* 2004; 36: 131-137.
51. Koros E, Dörner-Ciossek C. The role of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  in schizophrenia. *Drug News Perspect* 2007; 20: 437-445.
52. Li X, Jope RS. Is glycogen synthase kinase-3 a central modulator in mood regulation? *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 2010; 35: 2143-2154.
53. Beaulieu J-M, Marion S, Rodriguiz RM, Medvedev IO, Sotnikova TD, Ghisi V, et al. A beta-arrestin 2 signaling complex mediates lithium action on behavior. *Cell* 2008; 132: 125-136.
54. O'Brien WT, Huang J, Buccafusca R, Garskof J, Valvezan AJ, Berry GT, et al. Glycogen synthase kinase-3 is essential for  $\beta$ -arrestin-2 complex formation and lithium-sensitive behaviors in mice. *J Clin Invest* 2011; 121: 3756-3762.
55. Gao Y, Peterson S, Masri B, Hougland MT, Adham N, Gyertyán I, et al. Cariprazine exerts antimanic properties and interferes with dopamine D<sub>2</sub> receptor  $\beta$ -arrestin interactions. *Pharmacol Res Perspect* 2015; 3: e00073.
56. Celada P, Puig M, Amargos-Bosch M, Adell A, Artigas F. The therapeutic role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors in depression. *J Psychiatry Neurosci* 2004; 29: 252-265.
57. Newman-Tancredi A. Biased agonism at serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors: preferential postsynaptic activity for improved therapy of CNS disorders. *Neuropsychiatry* 2011; 1: 149-164.
58. Yocca FD, Iben L, Meller E. Lack of apparent receptor reserve at postsynaptic 5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptors negatively coupled to adenylyl cyclase activity in rat hippocampal membranes. *Mol Pharmacol* 1992; 41: 1066-1072.
59. Cowen DS, Johnson-Farley NN, Trankina T. 5-HT receptors couple to activation of Akt, but not extracellular-regulated kinase (ERK), in cultured hippocampal neurons. *J Neurochem* 2005; 93: 910-917.
60. Buritova J, Berrichon G, Cathala C, Colpaert F, Cussac D. Region-specific changes in 5-HT<sub>1A</sub> agonist-induced Extracellular signal-Regulated Kinases 1/2 phosphorylation in rat brain: a quantitative ELISA study. *Neuropharmacology* 2009; 56: 350-361.
61. Raymond JR, Turner JH, Gelasco AK, Ayiku HB, Coaxum SD, Arthur JM, Garnovskaya MN. 5-HT Receptor Signal Transduction Pathways. In: Roth BL (ed.). *The Serotonin Receptors*. Totowa, NJ: Humana Press; 2006.

62. Mannoury la Cour C, El Mestikawy S, Hanoun N, Hamon M, Lanfumey L. Regional differences in the coupling of 5-hydroxytryptamine-1A receptors to G proteins in the rat brain. *Mol Pharmacol* 2006; 70: 1013-1321.
63. Albert PR, François BL. Modifying 5-HT1A Receptor Gene Expression as a New Target for Antidepressant Therapy. *Front Neurosci* 2010; 4: 35.
64. Richardson-Jones JW, Craige CP, Guiard BP, Stephen A, Metzger KL, Kung HF, et al. 5-HT1A autoreceptor levels determine vulnerability to stress and response to antidepressants. *Neuron* 2010; 65: 40-52.
65. Savitz J, Lucki I, Drevets WC. 5-HT(1A) receptor function in major depressive disorder. *Prog Neurobiol* 2009; 88: 17-31.
66. Iderberg H, McCreary AC, Varney MA, Cenci MA, Newman-Tancredi A. Activity of serotonin 5-HT1A receptor 'biased agonists' in rat models of Parkinson's disease and l-DOPA-induced dyskinesia. *Neuropharmacology* 2015; 93: 52-67.
67. Lladó-Pelfort L, Assié M-B, Newman-Tancredi A, Artigas F, Celada P. Preferential in vivo action of F15599, a novel 5-HT(1A) receptor agonist, at postsynaptic 5-HT(1A) receptors. *Br J Pharmacol* 2010; 160: 1929-1940.
68. Becker G, Bolbos R, Costes N, Redouté J, Newman-Tancredi A, Zimmer L. Selective serotonin 5-HT1A receptor biased agonists elicit distinct brain activation patterns: a pharmacMRI study. *Sci Rep* 2016; 6: 26633.
69. Assié M-B, Bardin L, Auclair AL, Carilla-Durand E, Depoortère R, Koek W, et al. F15599, a highly selective post-synaptic 5-HT(1A) receptor agonist: in-vivo profile in behavioural models of antidepressant and serotonergic activity. *Int J Neuropsychopharmacol Off Sci J Coll Int Neuropsychopharmacol CINP* 2010; 13: 1285-1298.
70. Depoortère R, Auclair AL, Bardin L, Colpaert FC, Vacher B, Newman-Tancredi A. F15599, a preferential post-synaptic 5-HT1A receptor agonist: activity in models of cognition in comparison with reference 5-HT1A receptor agonists. *Eur Neuropsychopharmacol J Eur Coll Neuropsychopharmacol* 2010; 20: 641-654.
71. Levitt ES, Hunnicutt BJ, Knopp SJ, Williams JT, Bissonnette JM. A selective 5-HT1a receptor agonist improves respiration in a mouse model of Rett syndrome. *J Appl Physiol (1985)* 2013; 115: 1626-1633.
72. Mombereau C, Arnt J, Mørk A. Involvement of presynaptic 5-HT1A receptors in the low propensity of brexpiprazole to induce extrapyramidal side effects in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2017; 153: 141-146.